

19.11.2004

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 4 年 6 月 2 3 日
Date of Application:

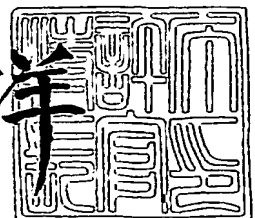
出 願 番 号 特 願 2 0 0 4 - 1 8 4 5 9 6
Application Number:
[ST. 10/C] : [J P 2 0 0 4 - 1 8 4 5 9 6]

出 願 人 三 菱 瓦 斯 化 学 株 式 有 限 公 司
Applicant(s):

2 0 0 5 年 1 月 7 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小 川 洋



BEST AVAILABLE COPY

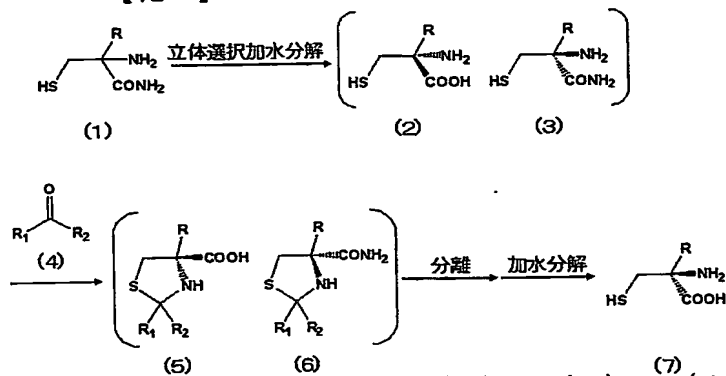
【書類名】 特許願
【整理番号】 P2003-353
【あて先】 特許庁長官殿
【国際特許分類】 C12P 41/00
【発明者】
 【住所又は居所】 新潟県新潟市太夫浜字新割 1 8 2 番地 三菱瓦斯化学株式会社新潟
 新潟研究所内
 【氏名】 樋口 靖
【発明者】
 【住所又は居所】 新潟県新潟市太夫浜字新割 1 8 2 番地 三菱瓦斯化学株式会社新潟
 新潟研究所内
 【氏名】 田中 昭宣
【発明者】
 【住所又は居所】 新潟県新潟市太夫浜字新割 1 8 2 番地 三菱瓦斯化学株式会社新潟
 新潟研究所内
 【氏名】 長谷見 隆司
【発明者】
 【住所又は居所】 新潟県新潟市太夫浜字新割 1 8 2 番地 三菱瓦斯化学株式会社新潟
 新潟研究所内
 【氏名】 杉田 将紀
【特許出願人】
 【識別番号】 000004466
 【氏名又は名称】 三菱瓦斯化学株式会社
【代理人】
 【識別番号】 100117891
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 永井 隆
【手数料の表示】
 【予納台帳番号】 025737
 【納付金額】 16,000円
【提出物件の目録】
 【物件名】 特許請求の範囲 1
 【物件名】 明細書 1
 【物件名】 要約書 1
 【包括委任状番号】 0102335

【書類名】特許請求の範囲

【請求項 1】

一般式 (1) で示される 2-アルキルシステインアミドに、2-アルキル-L-システインアミドのアミド結合を立体選択的に加水分解する活性を有する微生物の菌体又は菌体処理物を作用させて、一般式 (2) で示される 2-アルキル-L-システインを生成させ、生成した 2-アルキル-L-システインと一般式 (3) で示される未反応の 2-アルキル-D-システインアミドを一般式 (4) で示されるアルデヒド又はケトン、或いはそれらのアセタール（ケタール）と反応させて、それぞれ一般式 (5) で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸及び一般式 (6) で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸アミドに誘導し、該混合物より一般式 (6) で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸アミドを分離した後、これを加水分解することによって開環、脱アミド化し、一般式 (7) で示される光学活性 2-アルキル-D-システインを取得することを特徴とする、2-アルキルシステインアミドから光学活性 2-アルキル-D-システインを製造する方法。

【化 1】



(一般式 (1)、(2)、(3)、(5)、(6) 及び (7) 中の R は炭素数 1～4 の低級アルキル基を示す。一般式 (4)、(5) 及び (6) 中の、R₁ 及び R₂ は各々独立した水素、炭素数 1～4 の低級アルキル基、又は両者が互いに結合した員数 5～8 の脂環構造を示す。但し、両者が同時に水素である場合を除く)

【請求項 2】

一般式 (1)、(2)、(3)、(5)、(6) 及び (7) 中の R がメチル基である、請求項 1 に記載の 2-アルキルシステインアミドから光学活性 2-アルキル-D-システインを製造する方法。

【請求項 3】

一般式 (4)、(5)、及び (6) 中の R₁ 及び R₂ が共にメチル基である、請求項 1 又は 2 に記載の 2-アルキルシステインアミドから光学活性 2-アルキル-D-システインを製造する方法。

【書類名】 明細書

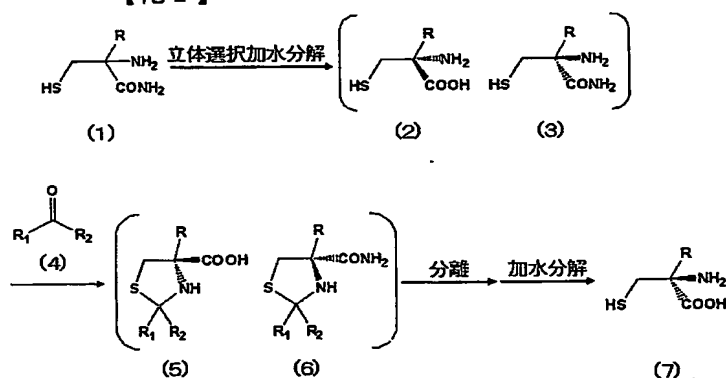
【発明の名称】 光学活性 2-アルキル-D-システインの製造方法

【技術分野】

【0001】

本発明は、一般式(7)で示される光学活性 2-アルキル-D-システインの製造方法に関する。詳しくは、一般式(1)で示される DL 体の混合物である 2-アルキルシステインアミドに、2-アルキル-L-システインアミドのアミド結合を立体選択的に加水分解する活性を有する微生物の菌体又は菌体処理物を作用させて、一般式(2)で示される 2-アルキル-L-システインを生成させ、生成した 2-アルキル-L-システインと一般式(3)で示される未反応の 2-アルキル-D-システインアミドを一般式(4)で示されるアルデヒド又はケトン、或いはそれらのアセタール(ケタール)と反応させて、それぞれ一般式(5)で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸及び一般式(6)で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸アミドに誘導し、該混合物から一般式(6)で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸アミドを分離した後、これを加水分解することによって開環、脱アミド化し、一般式(7)で示される光学活性 2-アルキル-D-システインを取得することを特徴とする、2-アルキルシステインアミドから光学活性 2-アルキル-D-システインを製造する方法に関する。光学活性 2-アルキル-D-システインは、各種工業薬品、農薬、及び医薬品の製造中間体として重要な物質である。

【化1】



(一般式(1)、(2)、(3)、(5)、(6)及び(7)中のRは炭素数1~4の低級アルキル基を示す。一般式(4)、(5)及び(6)中の、R₁及びR₂は各々独立した水素、炭素数1~4の低級アルキル基、又は両者が互いに結合した員数5~8の脂環構造を示す。但し、両者が同時に水素である場合を除く)

【背景技術】

【0002】

従来、光学活性 2-アルキルシステインの製造方法として、光学活性なシステインメチルエステルを出発原料として、ピバルアルデヒドで環化、ホルムアルデヒドで保護し、リチウム試薬とヨウ化メチルでメチル化した後、塩酸で開環、脱保護して光学活性 2-メチルシステインを塩酸塩として得る方法が知られている(例えば、特許文献1、非特許文献1参照)。しかし、これらの方法は出発原料が光学活性体であり、しかも工程数が多く煩雑であり、高価な試薬を必要とするため、工業的に優れた方法とはいえない。

【0003】

また、光学活性 2-アルキルシステインの製造法として、L-システインエチルエステルを出発原料として、ニトリル化合物で環化、ヨウ化メチルなどのメチル化剤を用いてメチル化を行い、エステルの塩基性加水分解を経て4-メチルチアゾリジン-4-カルボン酸のラセミ体とし、微生物を使用するなどして光学分割を行い目的とする光学活性 4-メチルチアゾリジン-4-カルボン酸を得て、加水分解を施すことにより光学活性 2-メチルシステインを得る方法が報告されている(例えば、特許文献2、特許文献3参照)。しかし、光学活性体を原料とするにもかかわらず、反応途中の中間体がラセミ体となり、再び光学分割を行う必要があるため、工程が煩雑となり工業的には適しているとはいえない。

たい。

【0004】

一方、一般式(1)で示される2-アルキルシステインアミドを微生物が有する酵素を利用して不斉加水分解し、一般式(7)で示される光学活性2-アルキル-D-システインを製造する方法は報告されていない。

【0005】

【特許文献1】米国特許第6,403,830号明細書

【特許文献2】特開2003-201284号公報

【特許文献3】欧州特許第1302467号明細書

【非特許文献1】Gerald Pattenden, Stephen M. Thom and Martin F. Jones, Tetrahedron, Vol 49, No 10, pp 2131-2138, 1993

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

本発明の目的は、従来技術における上記のような課題を解決し、光学活性な各種工業薬品、農薬、及び医薬品の製造中間体として非常に重要な光学活性2-アルキル-D-システインを高品質かつ安価に製造する方法を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0007】

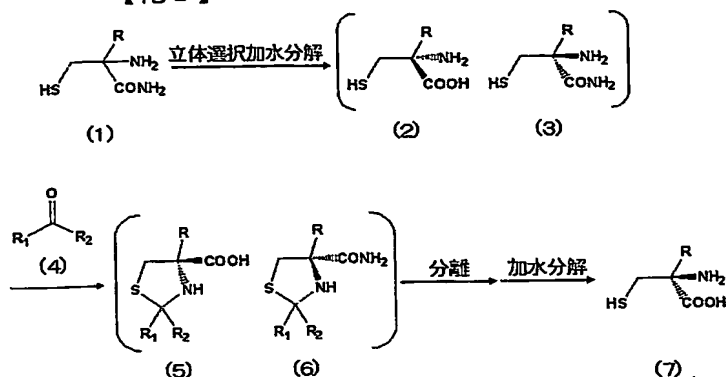
本発明者らは、高品質かつ安価に光学活性2-アルキル-D-システインを製造する方法について鋭意検討を行った結果、2-アルキルシステインアミドの生化学的不斉加水分解反応で生成した2-アルキル-L-システインと未反応の2-アルキル-D-システインアミドとの間に、水及び各種有機溶媒に対する溶解度及び分配係数等の物理化学的性状に大きな差がないため、効率的な分離を行うためにはさらなる改良を要することを知った。そこで検討を加え、生成した2-アルキル-L-システインと未反応の2-アルキル-D-システインアミドを一般式(4)で示されるアルデヒド又はケトン、或いはそれらのアセタール(ケタール)と反応させて、それぞれ一般式(5)で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸及び一般式(6)で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸アミドに誘導することにより、両物質を簡単な固液分離手段で効率的に分離することが可能となり、得られたチアゾリジン-4-カルボン酸アミドを加水分解することによって、光学活性2-アルキル-D-システインを本発明に到達した。

【0008】

即ち、本発明は、一般式(1)で示される2-アルキルシステインアミドから、一般式(7)で示される光学活性2-アルキル-D-システインを、高品質かつ安価に製造するための1)~3)に示す方法に関する。

1) 一般式(1)で示される2-アルキルシステインアミドに、2-アルキル-L-システインアミドのアミド結合を立体選択的に加水分解する活性を有する微生物の菌体又は菌体処理物を作用させて、一般式(2)で示される2-アルキル-L-システインを生成させ、生成した2-アルキル-L-システインと一般式(3)で示される未反応の2-アルキル-D-システインアミドを一般式(4)で示されるアルデヒド又はケトン、或いはそれらのアセタール(ケタール)と反応させて、それぞれ一般式(5)で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸及び一般式(6)で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸アミドに誘導し、該混合物より一般式(6)で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸アミドを分離した後、これを加水分解することによって開環、脱アミド化し、一般式(7)で示される光学活性2-アルキル-D-システインを取得することを特徴とする、2-アルキルシステインアミドから光学活性2-アルキル-D-システインを製造する方法。

【化2】



(一般式 (1)、(2)、(3)、(5)、(6) 及び (7) 中の R は炭素数 1～4 の低級アルキル基を示す。一般式 (4)、(5) 及び (6) 中の、R₁ 及び R₂ は各々独立した水素、炭素数 1～4 の低級アルキル基、又は両者が互いに結合した員数 5～8 の脂環構造を示す。但し、両者が同時に水素である場合を除く)

2) 一般式 (1)、(2)、(3)、(5)、(6) 及び (7) 中の R がメチル基である、1) に記載の 2-アルキルシステインアミドから光学活性 2-アルキル-D-システインを製造する方法。

3) 一般式 (4)、(5)、及び (6) 中の R₁ 及び R₂ が共にメチル基である、1) 又は 2) に記載の 2-アルキルシステインアミドから光学活性 2-アルキル-D-システインを製造する方法。

【発明の効果】

【0009】

2-アルキルシステインアミドのアミド結合を生化学的に不斉分解し、生成した 2-アルキル-L-システインと未反応の 2-アルキル-D-システインアミドを、一般式 (4) で示されるアルデヒド又はケトン、或いはそれらのアセタール (ケタール) と反応させて、それぞれ一般式 (5) で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸及び一般式 (6) で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸アミドに誘導し、該混合物より一般式 (6) で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸アミドを分離した後、加水分解的に開環、脱アミド化して、一般式 (7) で示される 2-アルキル-D-システインを得る本発明の方法が提供されたことにより、DL 体の混合物である 2-アルキルシステインから、医薬品等の製造中間体として重要な、高品質の光学活性 2-アルキル-D-システインを効率良く製造することが可能となった。

【発明を実施するための最良の形態】

【0010】

以下に本発明の詳細について説明する。本発明の原料となる 2-アルキルシステインアミドを示す一般式 (1) における R は、炭素数 1～4 の低級アルキル基であればよく、特に制限はないが、例えば、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、secブチル及び tブチルなどの直鎖又は分枝した低級アルキル基が好適であり、メチル基が特に好適である。また、2-アルキルシステインアミドの製造法等に特に制限はなく、例えば該当する 4-アルキルチアゾリジン-4-カルボン酸アミド誘導体を加水分解する方法などによって得ることができる。なお、用いる 2-アルキルシステインアミドは、遊離物の他、塩酸塩、硫酸塩、酢酸塩等の塩として用いることも可能である。

【0011】

本発明の一般式 (1) で示される 2-アルキルシステインアミドの生化学的不斉加水分解に使用される微生物は、2-アルキル-L-システインアミドのアミド結合を立体選択的に加水分解する活性を有する微生物であればよく、このような微生物として、例えば、キサントバクター属、プロタミノバクター属、及びミコプラナ属等に属する微生物、具体的にはキサントバクター フラバス (*Xanthobacter flavus*) NCI B 10071、プロタミノバクター アルボフラバス (*Protaminobacte*

r alboflavus) ATCC 8458、ミコプラナ ラモサ (Mycoplasma ramosae) NCIB 9440、ミコプラナ デイモルファ (Mycoplasma dimorpha) ATCC 4279 が挙げられるが、これらに限定されるものではない。また、これら微生物から人工的変異手段によって誘導される変異株、或いは細胞融合若しくは遺伝子組換え法等の遺伝学的手法により誘導される組換え株等の何れの株であっても上記能力を有するものであれば、本発明に使用できる。

【0012】

これらの微生物の培養は、通常資化し得る炭素源、窒素源、各微生物に必須の無機塩、栄養素等を含有させた培地を用いて行われる。培養時の pH は 4～10 の範囲であり、温度は 20～50℃である。培養は1日～1週間程度好氣的に行われる。このようにして培養した微生物は、生菌体又は該生菌体処理物、例えば培養液、分離菌体、菌体破砕物、さらには精製した酵素として反応に使用される。また、常法に従って菌体又は酵素を固定化して使用することもできる。

【0013】

2-アルキルシステインアミドの生化学的不斉加水分解反応の条件は以下の通りである。基質である 2-アルキルシステインアミドの濃度は、0.1～40 wt % の範囲が好ましく、0.5～20 wt % の範囲がより好ましい。基質濃度が 0.1 wt % を下回る場合は反応液の容量が単に増えるだけで、生産性の面から不利となる。一方、基質濃度が 40 wt % を超える場合は、基質阻害が生じ、菌体又は菌体処理物当たりの生産性の面から不利となる。

【0014】

基質である 2-アルキルシステインアミドに対する微生物の菌体又は菌体処理物の使用量は、原料として用いる微生物菌体の重量が乾燥菌体に直して重量比で 0.0001～3 の範囲になるように添加することが好ましく、0.001～1 の範囲になるようにすることがより好ましい。重量比が 0.0001 を下回る場合には反応速度が遅いため処理に長時間を要することになり、3 を超える場合には反応時間は短くなるものの、微生物菌体の利用の面から効率的とは言えず、しかも反応後の菌体又は菌体処理物の分離に労力を要することとなり工業的に不利となる。なお、原料である 2-アルキルシステインアミドの反応液中における濃度が高い場合には、前記の菌体又は菌体処理物の使用量比が、好ましい範囲の上限である 3 以下であって、反応が好適に実施できる比率を適宜選択すればよい。

【0015】

反応温度は 10～70℃の範囲が好ましく、20～40℃の範囲がより好ましい。反応温度が 10℃を下回る場合は反応速度が遅いため処理時間が長くなり不利となる。一方、反応温度が 70℃を超える場合は、菌体又は菌体処理物の酵素触媒活性が失活により低下するとともに、2-アルキル-D-システインアミドの非酵素的分解も伴うようになり、反応収率及び選択性の面で不利となる。

【0016】

反応溶液は pH 4～13 の水溶液が好ましく、pH 5～10 の範囲がより好ましい。よりさらには、pH 7～9 の中性から比較的穏和な塩基性条件が特に好ましい。pH 4 を下回る場合は、菌体又は菌体処理物の触媒活性が低下し、pH 13 を上回る場合も同様に触媒活性が低下する。そのうえさらに、反応液中に含まれる 2-アルキル-D-システインアミド、2-アルキル-L-システインアミド、生成物である 2-アルキル-L-システイン同士が、ジスルフィド結合を形成し二量化するため好ましくない。また、2-アルキル-D-システインアミドの非酵素的な加水分解反応も起こり易くなりこれも好ましくない。反応液の pH を調整するに当たっては、水酸化ナトリウムや水酸化カリウム等の無機塩基類、及びアンモニア等を用いればよい。また、その他の物質を溶解してなる緩衝液を用いてもよい。

【0017】

反応を行う際、さらに Mg、Cu、Zn、Fe、Mn、Ni、Co 等の金属イオンを酵素触媒の活性化剤として添加してもよい。添加する量は使用する培養菌体の菌株の種類、

添加する金属イオンの種類によって異なり一概には言えないが、好ましくは1～50 ppm、より好ましくは5～20 ppmとなる濃度の金属イオンを添加することにより、不斉加水分解速度を向上させることができる。例えば、2価のMnイオンを5～20 ppm加えた場合、反応速度は、無添加の場合に比較して2～5倍と大幅に向上する。なお、生化学的不斉加水分解反応に使用した菌体又は菌体処理物は、酵素反応に使用した後も、遠心分離若しくは濾過操作などにより回収し、不斉加水分解反応用の酵素触媒として再利用することができる。

【0018】

原料の2-アルキルシステインアミド、反応後の2-アルキル-L-システインや2-アルキル-D-システインアミドは構造内にメルカプト基を有することから酸化を受けやすく、酸素存在下で放置すると2量化したジスルフィド(2, 2'-ジアルキルシスチン)となる。これを防止するため、反応は窒素等の不活性ガス雰囲気下で行なうのが好ましいが、系内に2-メルカプトエタノール等の還元性物質を共存させる方法も可能である。また、反応に用いる全ての溶媒を反応実施前に脱気すると、副生成物を生成せず好適に反応を進行させることができるようになる。

【0019】

反応終了液から、例えば遠心分離又は濾過膜などの通常の固液分離手段により微生物菌体を除き、さらに限外濾過や活性炭等の吸着剤を用いて残された微生物由来の有機物を除去すると以降の反応を進める上でより好適である。次いで、この反応液を濃縮して水を留去し、濃縮物を次のチアゾリジン環化反応の原料に供する。

【0020】

2-アルキルシステインアミドの生化学的不斉加水分解反応で生成した2-アルキル-L-システインと未反応の2-アルキル-D-システインアミドは、一般式(4)で示されるアルデヒド又はケトン、或いはそれらのアセタール(ケタール)と反応させて、それぞれ一般式(5)で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸及び一般式(6)で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸アミドに誘導される。ここで使用するアルデヒド又はケトンを表す一般式(4)のR₁及びR₂は各々独立して水素又は炭素数1～4の低級アルキル基(但し、互いに水素の場合を除く)、又はR₁とR₂が一つの環を形成する員数5～8の脂環構造であればよく、特に制限はないが、アルキル基としては例えば、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、secブチル及びtブチルなどの直鎖又は分枝した低級アルキル基が好適であり、R₁及びR₂が互いにメチル基の場合が特に好適である。このような化合物として、具体的にはアセトン、メチルエチルケトン、シクロヘキサノン等が挙げられ、特にアセトンが好適に使用される。

【0021】

用いる有機溶媒としては、それ自体が反応の基質でもある一般式(4)で示されるアルデヒド又はケトン、或いはそれらのアセタール(ケタール)が反応系の分子種を増やさずにすむ点で好ましい。添加量はチアゾリジン環化する2-アルキル-L-システインと2-アルキル-D-システインアミドの合計量に対して同等モル以上あればよく、特に上限はないが、経済性の観点から均一溶液となる濃度を上限として用いるのが好ましい。また、それだけでは反応基質や生成物の溶解度が不足し反応系が均一化できない場合には、少ない添加量で均一性が保たれ反応に対する妨害作用を有さない溶媒を適宜選択して用いればよい。そのような溶媒としては、例えば、メタノール、エタノール等のアルコール類が好適に用いられる。

【0022】

また、反応に伴う生成を除去しながら行くと、より好適に反応を進行させることができる。脱水法としては特に限定されず、ディーンシュターク分液装置やモレキュラーシーブの様な脱水剤を用いても良く、脱水剤を用いる場合には生成水量の1倍モル以上、好ましくは1.2倍モル以上の脱水能力を持つように用いるのが望ましい。反応温度は特に限定されないが、より高い温度で実施した方が反応が早く進行することから、通常は還流温度条件で行なうのが好ましい。また、この環化反応は無触媒でも進行するが、少量の塩基を

添加した方がより速やかに進行する。用いる塩基としては特に限定はされないが、水酸化ナトリウム、テトラメチルアンモニウムヒドロキシド、アンモニア、トリメチルアミン等の塩基性物質の他、炭酸ナトリウム等の塩基性を示す塩類が使用可能である。その量が過剰であった場合、後処理の中和に必要な酸の量が増えるため好ましくなく、適当な量は原料の2-アルキルシステインアミドの5倍当量以下、好ましくは1~3倍当量である。

【0023】

反応終了後の反応液から溶媒と揮発分を除去した後、得られた濃縮物からアルコール類などの適当な有機溶媒を用いて可溶物のチアゾリジン-4-カルボン酸アミドを抽出し、不溶物として残ったチアゾリジン-4-カルボン酸を濾別する。抽出液として得られたチアゾリジン-4-カルボン酸アミドは、エバポレータなどにより濃縮乾固した後、適当な有機溶媒で洗浄することにより不純物となるタンパク質、核酸及びチアゾリジン-4-カルボン酸等を取り除くことができる。この際に用いられる有機溶媒は特に限定されないが、生化学的不斉加水分解時に混入してくるタンパク質や核酸等を溶解し、且つ目的とするチアゾリジン-4-カルボン酸アミドが溶解しにくい溶媒を適宜選択されれば良く、例えば、アセトンやシクロヘキサノン等のケトン類、ヘキサンやシクロヘキサン等の炭化水素類が好適に用いられる。

【0024】

濾取したチアゾリジン-4-カルボン酸アミドを水に懸濁させて加熱還流すると、加水分解的に開環反応と脱アミド反応が起こり、2-アルキル-D-システインが生成する。この際、生成するアルデヒド又はケトン系を系外に除去しながら行なうと、反応が速やかに進行する。また、加水分解触媒として塩酸や硫酸等の酸を用いると、反応がより速やかに進行するが、この場合には2-アルキル-D-システインの酸塩が得られることになる。反応後の反応液は、ジエチルエーテルや塩化メチレン等の非極性有機溶媒を加えて、分液、洗浄して、残留するアルデヒド又はケトンを除去する。この水層を濃縮すると2-アルキル-D-システインが得られる。なお、加水分解触媒として塩酸や硫酸等の酸を加えた場合には、加水分解したアミドがアンモニウム塩となり結晶に混入するが、これは得られたアルキル-D-システインを再結晶するか、イオン交換樹脂等で脱塩することにより除去することができる。

【0025】

本発明の方法によって、具体的には、例えば2-メチル-D-システイン、2-エチル-D-システイン等の光学活性2-アルキル-D-システインを製造することができる。

【実施例】

【0026】

本発明を実施例により更に具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

実施例1

【0027】

以下の組成を有する培地を調製し、この培地200mLを1L三角フラスコに入れ、滅菌後、キサントバクターフラバス (*Xanthobacter flavus*) NCIB 10071 を接種し、30℃で48時間振とう培養を行った。次いで培養液から、遠心分離により、乾燥菌体1.0gに相当する生菌体を得た。

培地組成 (pH7.0)

グルコース	10 g
ポリペプトン	5 g
酵母エキス	5 g
KH ₂ PO ₄	1 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.4 g
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.01 g
MnCl ₂ · 4H ₂ O	0.01 g
水	1L

ラセミ体の 2-メチルシステインアミド塩酸塩 10.0 g (0.06 mol) を水 300 mL に溶かした後、500 mL フラスコに入れ、2 価の Mn イオン濃度が 10 ppm となるように塩化マンガン水溶液を加え、さらに、乾燥菌体 1.0 g に相当する生菌体を加えて、窒素気流下、40℃ で 24 時間攪拌して加水分解反応を行った。反応後、反応液から遠心分離によって菌体を除去して上清を得た。この上清をロータリーエバポレーターで濃縮した後、メタノール 150 mL に溶解させた。続いてアセトン 200 mL、炭酸ナトリウム 3.6 g (0.03 mol) を加えて 16 時間、攪拌下室温で反応させた。反応液を濃縮した後、50 mL のイソブチルアルコールを加えて 4 時間還流条件で可溶物を抽出し、放冷後、不溶物として残った結晶を濾別した。得られた濾液をロータリーエバポレーターで濃縮乾固し、この濃縮物を 50 mL のヘキサンで洗浄した後、再度乾固させることにより白色固体の 2, 2, 4-トリメチルチアゾリジン-4-カルボン酸アミドを得た。得られた 2, 2, 4-トリメチルチアゾリジン-4-カルボン酸アミドを 100 mL の純水に懸濁させ、3 時間、加熱還流を行った。反応液を、50 mL のジエチルエーテルで 2 回洗浄した後、水層を濃縮乾固、減圧乾燥することにより、3.3 g (0.02 mol) の 2-メチル-D-システインを得た。反応に仕込んだラセミ混合物中の 2-メチル-D-システインアミドからの単離収率は 84 mol %、2-メチルシステインアミドのラセミ混合物からの単離収率は 42 mol % であった。また、この固体を光学異性体分離カラムを用いた液体クロマトグラフィーによって分析した結果、光学純度は 95 % e. e. 以上であった。

実施例 2

【0028】

実施例 1 において、塩化マンガン水溶液を加えずに生化学的不斉加水分解反応を行ったところ、40℃ 48 時間反応させることにより実施例 1 と同様に 3.3 g (0.02 mol) の 2-メチル-D-システインが得られた。2-メチル-D-システインアミドからの単離収率は 84 mol %、2-メチルシステインアミドからの単離収率は 42 mol %、光学純度は 95 % e. e. 以上であった。

【書類名】要約書

【要約】

【課題】

各種工業薬品、農薬及び医薬品の製造原料として広範な活用が期待され、産業上、非常に有用な化合物である光学活性 2-アルキル-D-システインの効率的な製造方法を提供する。

【解決手段】

D,L 混合物である 2-アルキルシステインアミドに、2-アルキル-L-システインアミドのアミド結合を立体選択的に加水分解する活性を有する微生物の菌体又は菌体処理物を作用させ、生成した 2-アルキル-L-システインと未反応の 2-アルキル-D-システインアミドを、アルデヒド又はケトン、或いはケタール（アセタール）と反応させてチアゾリジン環化させた後、チアゾリジン-4-カルボン酸アミドを分離し、これを開環、脱アミド化することによって、高品質かつ安価に光学活性 2-アルキル-D-システインを製造することができる。

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2004-184596
受付番号	50401053219
書類名	特許願
担当官	第五担当上席 0094
作成日	平成16年 6月24日

<認定情報・付加情報>

【提出日】 平成16年 6月23日

特願 2 0 0 4 - 1 8 4 5 9 6

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[0 0 0 0 0 4 4 6 6]

1. 変更年月日

1 9 9 4 年 7 月 2 6 日

[変更理由]

住所変更

住 所

東京都千代田区丸の内 2 丁目 5 番 2 号

氏 名

三菱瓦斯化学株式会社

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/JP04/017140

International filing date: 18 November 2004 (18.11.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP
Number: 2004-184596
Filing date: 23 June 2004 (23.06.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 20 January 2005 (20.01.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record.**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☒ **BLACK BORDERS**

☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☐ **FADED TEXT OR DRAWING**

☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☒ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.